

Influencia de las longitudes de onda en el crecimiento de cepas aisladas de *Chlorella* sp.

Influence of wavelengths on the growth of isolated strains of *Chlorella* sp.

Katherine Caiza-Lincango^{1[0009-0008-7458-7912]}, Gonzalo Soto^{2[0000-0003-4107-4543]},
Marcela Coello^{3[0009-0001-9676-1212]}.

^{1,2,3} Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Biológicas. Carrera de Biología. Quito, Ecuador

{kecaiza@uce.edu.ec, gasotos@uce.edu.ec, gmcoello@uce.edu.ec}

CITA EN APA:

Caiza-Lincango, K., Soto, G., & Coello, M. (2024). Influencia de las longitudes de onda en el crecimiento de cepas aisladas de *Chlorella* sp. *Tesla Revista Científica*, 3(2), e316.
<https://doi.org/10.55204/trc.v3i2.e316>

Recibido: 2023-06-15

Revisado: 2023-06-22 al 2023-07-21

Corregido: 2023-08-07

Aceptado: 2023-08-15

Publicado: 2023-08-20

TESLA

Revista Científica

ISSN: 2796-9320



Los contenidos de este artículo están bajo una licencia de Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) Los autores conservan los derechos morales y patrimoniales de sus obras.

The contents of this article are under a Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license. The authors retain the moral and patrimonial rights of their works.

Resumen. *Chlorella* sp., es una microalga fotosintética distribuida mundialmente en hábitats acuáticos y actualmente se los cultiva en fotobiorreactores para explotar la biomasa cosechada que tiene diversos usos. La presente investigación tuvo como objetivo analizar los efectos que provocan la longitud de onda azul, amarilla, y roja en el crecimiento de la biomasa de cepas aisladas de *Chlorella* sp., obtenidas de cuerpos de agua del cantón Rumiñahui. Se inoculó 400 ml de microalgas en 12 recipientes de 6000 ml con 3600 ml de agua destilada de los cuales: 3 fueron expuestos a luz azul (460nm y 480nm), 3 a luz amarilla (550nm y 580nm), 3 a luz roja (650nm y 800nm) y 3 a luz natural (control), durante 27 días, se realizó el conteo celular cada 3 días en la cámara de Neubauer de 0,1 mm., de profundidad. Los resultados indican que la densidad celular máxima de los tratamientos fue el azul $[2,7 \times 10]^6$ cel/ml Se concluyó que el crecimiento celular en los fotobiorreactores expuestos a la luz amarilla y roja presentaron los mejores, se observó que el cultivo con luz amarilla inició su fase de crecimiento exponencial el día 9 demostrando un efecto positivo.

Palabras Clave: Microalga, *Chlorella* sp., crecimiento celular, fotobiorreactor, longitud de onda

Abstract: *Chlorella* sp. is a photosynthetic microalgae distributed worldwide in aquatic habitats and is currently cultivated in photobioreactors to exploit the harvested biomass for various uses. The objective of this research was to analyze the effects of blue, yellow, and red wavelengths on the biomass growth of isolated strains of *Chlorella* sp. obtained from bodies of water in the Rumiñahui canton. Four hundred ml of microalgae were inoculated in 12 containers of 6000 ml with 3600 ml of distilled water of which 3 were exposed to blue light (460nm and 480nm), 3 to yellow light (550nm and 580nm), 3 to red light (650nm and 800nm) and 3 to natural light (control), for 27 days, cell counting was performed every 3 days in a Neubauer chamber of 0.1 mm depth. The results indicate that the maximum cell density of the treatments was blue $[2.7 \times 10]^6$ cell/ml It was concluded that cell growth in the photobioreactors exposed to yellow and red light presented the best, it was observed that the culture with yellow light started its exponential growth phase on day 9 demonstrating a positive effect

Keywords: Microalgae, *Chlorella* sp., cell growth, photobioreactors, wavelength

1. INTRODUCCIÓN

Las microalgas son microorganismos fotosintéticos unicelulares que obtiene su fuente de energía a través de la fijación del carbono con ayuda de la energía lumínica para sintetizar proteínas, lípidos y carbohidratos para producir biomasa (García 2013). Son organismos eucariotas como procariotas que se encuentran distribuidos en ambientes terrestres y acuáticos (Richmond 2003).

Estos organismos se clasifican como productores primarios en la cadena trófica, por ser los principales elaboradores de materia orgánica, ya que se ha comprobado que son 40% más eficientes que las plantas terrestres al momento de realizar la fotosíntesis y son la base de la cadena alimenticia en ambientes acuáticos (González 2015).

Según Graham y Wilcox (2000), estos microorganismos se dividen de acuerdo con los patrones de pigmento, forma de almacenamiento del alimento, la materia química en las paredes celulares y la presencia o falta de estructuras para el movimiento.

Chlorella sp. es una microalga perteneciente a la familia Chlorellaceae y al phylum Chlorophyta, son células circulares con una pequeña hendidura en el centro y su tamaño varía entre 2 y 10 micras, se las puede observar solas o formando grupos (Vera et al. 2007). Estas células tienen varios cloroplastos en forma de copa en las que podemos encontrar pigmentos fotosintéticos como: la clorofila a y b las cuales podrían ser las causantes de que estas microalgas sean tan eficientes al momento de realizar la fotosíntesis (Soto et al. 2020).

Se caracterizan también por tener una gran tasa de división celular entre 24 a 48 horas cuando son células jóvenes, pero cuando van madurando toman características de una zoospora para la reproducción asexual, para que esto suceda la temperatura óptima según González (2010) es de 25-30°C, con una iluminación aproximada de 430 nm a 675 nm, pH que oscile entre 7-7,5 y constante aireación.

La alta versatilidad de usos de este organismo ha hecho que sean estudiados para ser usadas en la: cosmética, alimentación, salud, biofertilizantes, biorremediación, pigmentos, faenamiento de animales, regeneración de oxígeno y el aprovechamiento de posibles fuentes de energías renovables. Al ser un organismo multifuncional puede compensar las posibles pérdidas monetarias utilizando la biomasa en más de una forma llamándose este mecanismo como “Sistema de doble propósito” (Robles-Pliego et al. 2015), (Plasencia 2012).

El tiempo de cada una de las 5 fases del crecimiento de biomasa de las microalgas depende de los parámetros fisicoquímicos, tamaño de la disolución y el estado fisiológico de la célula. La primera fase se llama de inducción en la cual las células se están ambientando a un nuevo cultivo, después de encontrarse en equilibrio bioquímico la reproducción celular es sumamente rápida y sin descanso por lo cual es conocida como fase exponencial aquí la tasa de crecimiento es mayor a las demás fases y es la mejor etapa para cosechar células para nuevos cultivos. En la fase de declinamiento relativo del crecimiento la reproducción celular disminuya notablemente por factores fisicoquímicos y biológicos siguiendo por la fase estacionaria en donde el número de microalgas no crece ni disminuye y culminando con la fase de muerte en donde las células existentes van disminuyendo (García 2021).

Los parámetros fisicoquímicos para el crecimiento óptimo de las microalgas son: la luz, que es la parte del espectro electromagnético que se puede percibir por el ojo humano; pero la parte del espectro de luz visible que nos interesa es el par (Photosynthetically Active Radiation) o Radiación Fotosintéticamente Activa, que es la que determina la cantidad de energía radiante que se necesita para realizar la fotosíntesis (Plasencia 2012).

La longitud de onda que se usa en la fotosíntesis oscila entre 400 y 700 nm, esta afectara al crecimiento de la biomasa algal, pero también hay que tomar en cuenta la intensidad lumínica junto con el fotoperiodo. La intensidad lumínica y la tasa fotosintética crecen de forma similar hasta llegar al punto de

saturación, siempre y cuando las condiciones ambientales que necesita cada organismo microalgal sean las correctas, al llegar a este punto la tasa fotosintética se mantendrá constante por un lapso máximo de 5 min. luego empezará a disminuir gradualmente (Plasencia 2012).

La eficiencia de aprovechamiento de luz de las microalgas va a depender de la cantidad de pigmentos fotosintéticos que tenga cada especie, así, aquellas que contengan mayor cantidad de pigmentos podrán aprovechar mejor la intensidad de luz a pesar de que esta pueda ser baja (Xue et al. 2011).

Cuando la intensidad lumínica es muy elevada, las microalgas no pueden usarla toda y el excedente es dispersado en forma de calor, llegando a disminuir la eficiencia fotosintética. Al vivir en estas condiciones lumínicas fuertes algunas especies se han visto en la necesidad de disminuir la cantidad de clorofila, llegando así a desarrollar la capacidad de tolerar rangos mayores a la fotoinhibición (Abalde et al. 1995).

La fotoinhibición se da cuándo la tasa fotosintética tiende a ganar valores negativos y genera daños a los cloroplastos, afectando así los fotosistemas; esto pasa cuando la intensidad lumínica sobrepasa el punto de saturación, aunque los otros factores de crecimiento como los bajos niveles de temperatura e intensidad lumínica también influyen (Carvalho et al. 2011).

Los pigmentos fotosintéticos son los encargados de absorber la energía acumulada en los fotones, pero para que esto pase es necesario que los niveles de energía de ambos sean equitativos para que así la molécula fotosintética pueda alcanzar el estado de excitación, aunque estos estados pueden llegar a ser muy inestables necesitando ceder energía en forma de calor, fluorescencia y procesos fotoquímicos (Barceló et al. 2001).

Las clorofilas a, b, c y d son los pigmentos fotosintéticos más importantes. Según Masojídek y asociados (2004), la clorofila se encuentra en el núcleo formando parte del centro de reacción del complejo pigmento-proteína de todos los seres fotoautótrofos oxigénicos; en cambio la clorofila b, c y d no se encuentran en todos los seres fotosintéticos, aunque su presencia ayuda a aumentar los rangos de absorción de luminosidad en las antenas colectoras de energía.

Los carotenoides son pigmentos secundarios que ayudan a la excitación de la clorofila a y b disipan la energía cuando existe demasiada irradiación; el trabajo en conjunto de estos 2 pigmentos fotosintéticos amplía las zonas de absorción (Plasencia 2012). Los pigmentos fotosintéticos solo utilizan la Energía Fotosintéticamente Utilizable (PUR) para que la fotosíntesis sea eficiente y tenga efectos positivos en el crecimiento de las microalgas que es un mecanismo evolutivo (Edding et al. 2006). Las diferentes longitudes de onda pueden afectar al metabolismo, al crecimiento y composición bioquímica de las microalgas tal es el caso que cuando estas son expuestas a las siguientes ondas se produce lo descrito posteriormente:

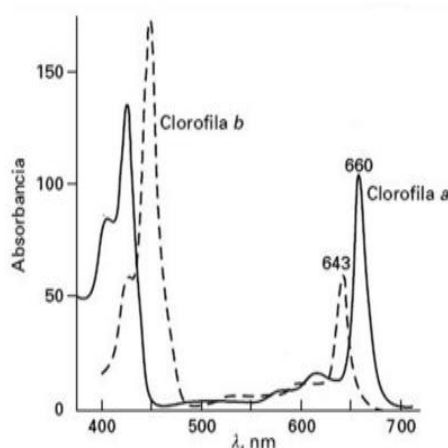
Luz azul: es la longitud de onda corta, esta entre 460nm y 480nm (Soria-Ruiz et al. 2016). La tasa de crecimiento y las densidades poblaciones aumentan en los cultivos de microalgas (Romero 2015) (Figura 1).

Luz amarilla: es la longitud de onda media oscila entre 550nm y 580nm. y controla aspectos del fotoperiodo (Soria-Ruiz et al. 2016), (Marín 2016) (Figura 1).

Luz roja: es la longitud de onda larga se encuentra entre 650nm y 800nm (Soria-Ruiz et al. 2016). Aumenta la cantidad de pigmentos secundarios como los carotenoides (Romero 2015), también estimula la síntesis de antocianinas y giberelinas que se relacionan con el crecimiento (Pérez y Fernández 2011) (Figura 1).

Las microalgas, al igual que otras plantas vasculares, también cumplen con ritmos circadianos en condiciones naturales, tal es el caso de la capacidad fotosintética que aumenta en las horas del día y disminuyen considerablemente en la noche; por estas fluctuaciones en este y otros procesos de crecimiento, el fotoperiodo también es importante tomar en cuenta en cultivos cerrados (Kondo e Ishiura 2000).

Figura 1. Espectro de absorción de las clorofilas a y b en diferentes longitudes de onda.



Fuente: (Azcón-Bieto y Talón 2008)

A pesar de que en la obscuridad no se produce biomasa, ésta ayuda a las microalgas a regular la eficiencia de fijación de Carbono. Aunque la exposición a la luz constante, con una temperatura adecuada en algunos ejemplares ha arrojado números mayores en la tasa de división celular (Mortain-Bertran et al. 1987).

La temperatura para un cultivo adecuado de microalgas va a depender esencialmente de la especie y otros factores limitantes, pero por lo general oscila entre 20° y 35° C (Park et al. 2011), y tiene una relación estrecha con la luz; así lo propone Abalde y otros (1995) en el que postula que las temperaturas óptimas son dados por el nivel de iluminación.

La eficiente fijación de CO₂ ayuda a controlar los niveles de pH del cultivo (Infante et al. 2012). El pH para el cultivo depende de la especie, pero según Park y otros (2011) el pH adecuado para especies dulceacuícolas es de un rango de 7-7,5 y si se eleva o disminuye estos niveles, el crecimiento de la biomasa se vería afectado, aunque también se ve influenciado por otros factores fisicoquímicos como los nutrientes, como es el caso del nitrógeno, que regula el contenido de lípidos para el crecimiento de biomasa, pero para ser asimilado debe ser en forma de nitrato (NO₃⁻) y amonio (NH₄⁺) (Hernández et al. 2014); también la ausencia del fósforo afectaría al crecimiento de la biomasa y a la transferencia de energía (Grobbelaar 2004).

La agitación adecuada promueve la distribución homogénea del cultivo de las microalgas y los nutrientes presentes, así se evita que se formen gradientes nutricionales como también la sedimentación y acumulación de oxígeno disuelto que se produce al momento de realizar la fotosíntesis, ya que en altas concentraciones llega a ser tóxico para el cultivo e inhibe el crecimiento (Ugwu et al. 2007, Eriksen 2008).

La depredación en cultivos abiertos reduce su productividad hasta en un 99% y los principales organismos depredadores son nemátodos, cladóceros y rotíferos, la forma de deshacerse de estos organismos según Park y asociados (2011) es con ayuda de filtración, centrifugación y aplicación de hormonas miméticas contra invertebrados.

Los cultivos de microalgas se caracterizan por necesitar de 10 a 100 veces menos espacio que los cultivos de plantas vasculares y el diseño abierto o cerrado de la construcción del cultivo se basa en criterios biológicos y físicos de la cepa elegida o los fines comerciales. (Martínez 2008).

El sistema cerrado se caracteriza por eliminar el contacto de biomasa con el medio ambiente, el control que da este sistema ayuda al manejo y estandarización de los parámetros fisicoquímicos del cultivo, disminuyendo así notablemente las carencias que tiene el cultivo en ambientes abiertos (Contreras-Flores et al. 2003).

Los sistemas abiertos, en cambio, se caracterizan por exponer la biomasa a condiciones medioambientales. Han sido practicados desde hace medio siglo, por lo cual son los más comunes y se los puede encontrar en la naturaleza, en sistemas acuáticos como son las lagunas y estanques, pero también existen los artificiales, que son estructuras de diferentes formas y diseños creados por el hombre para poder obtener el mejor rendimiento del cultivo (Martínez 2008). La ventaja de este sistema radica en los costos de construcción y operatividad, que son accesibles, aunque aún tienen falencias por necesitar grandes extensiones de terreno y peligrar por la presencia de depredadores, igualmente existe la posibilidad de evaporación cuando hay altos niveles de calor (Contreras-Flores et al. 2003).

Los fotobiorreactores fueron diseñados en los 90 con el objetivo de disminuir pérdidas de los cultivos que representaban fuga de dinero, los materiales que se utiliza para las paredes de los fotobiorreactores es vidrio o policarbonato transparente, para que la trayectoria de la luz ingrese a todo el cultivo; el motor otorga suficiente aeración para que no se forme cúmulos o sedimentación de las microalgas y su forma puede variar ya sea tubular, triangular, plana o cuadrado junto con la orientación que podría ser en forma horizontal, vertical e inclinada (Contreras-Flores et al. 2003).

Las microalgas pueden producir elevadas cantidades de biomasa en comparación con otros cultivos vegetales. Además, su huella ecológica es mínima en todo el ciclo de vida ya que se las puede cultivar en ambientes contaminados donde obtienen alimento sin la necesidad de agua potable y reducen la cantidad de gases de efecto invernadero (Castillo et al. 2017).

Para realizar la presente investigación se aplica las longitudes de ondas de luz azul, amarilla y roja sobre *Chlorella* sp. para comparar qué onda de luz es la óptima para el crecimiento. Las escasas investigaciones en el Ecuador sobre los cultivos de microalgas hacen que esta investigación pueda generar

nuevos conocimientos para los avances en los diseños de los fotobiorreactores. La investigación fue realizada en el laboratorio de ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Central del Ecuador ya que tiene expertos investigadores sobre el tema en tanto a la colecta de las microalgas se realizó en el río San Fernando en el Valle de los Chillos.

Tomando en cuenta todo lo antes expuesto este estudio buscó responder la pregunta de investigación: ¿Qué provoca la influencia de las longitudes de onda luz azul, amarilla y roja con respecto al crecimiento de la biomasa de cepas aisladas de *Chlorella* sp. obtenidas en el cantón Rumiñahui?

Por lo tanto, el objetivo general de la investigación es analizar la influencia de las longitudes de onda azul, amarilla, y roja en el crecimiento de la biomasa de cepas aisladas de *Chlorella* sp., obtenidas de cuerpos de agua en el cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha. El objetivo específico es cuantificar la biomasa de *Chlorella* sp., de cada ensayo mediante el conteo celular en la cámara de Neubauer para luego comparar el crecimiento de estas en cada tratamiento y determinar el óptimo fotobiorreactor para una mayor obtención de biomasa microalgal de *Chlorella* sp. en condiciones de laboratorio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La identificación de la microalga *Chlorella* sp. se realizó mediante el Catálogo de Microalgas y Cianobacterias de Agua Dulce del Ecuador de Guamán y González (2016), así mismo, los diseños de los fotobiorreactores se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Central del Ecuador.

La recolección se llevó a cabo el día 2 de abril del 2022 en el cantón Rumiñahui, ubicado al sureste de la provincia de Pichincha, rodeados por los cantones de Quito y Mejía. Ocupa una superficie de 132,78 km² en los cuales se distribuyen 5 parroquias, siendo así el cantón con menor extensión territorial de la provincia de Pichincha. Se encuentra en un rango altitudinal comprendido en 2550 m.s.n.m (Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Rumiñahui 2020). La muestra es tomada en la parroquia de Rumipamba, Barrio San Fernando, entrando por el corredor Cantuña en el río San Fernando en el punto (-0.38619, -78.41829) donde se observa la estrella color rojo (Figura 2).



Figura 2: Mapa de la toma de muestra de agua (estrella roja) y vertiente de donde se sacó la muestra.

Fuente: Google Earth (2022) y elaboración propia.

La parte experimental se realizó en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Central del Ecuador en el Cantón Quito, provincia de Pichincha.

2.1. Métodos

Fase de campo.

Colecta de las microalgas

Las muestras de microalgas para el estudio se obtuvieron del Río San Fernando en el punto (-0.38619, -78.41829), donde se visualizó una delgada capa de color verde sobre el agua, de la cual se extrajo agua con una pipeta para ser colocado en un tubo de ensayo y en otro tubo se colocó sedimentos que se obtuvo raspando rocas con ayuda de un cepillo de cerdas duras; para complementar estas colectas es necesario tomar 1000 ml de agua en un envase previamente esterilizado (Soto et al. 2020)

Fase de Laboratorio

Tratamiento de las muestras

Las muestras quedan en reposo a temperatura ambiente durante 72 horas en el laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UCE. Luego se llevó una gota de la muestra al microscopio para ser observada y con ayuda del catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador de Guamán y González (2016) se identificó la presencia de la microalga *Chlorella* sp. (Soto et al. 2020).

Aislamiento de muestra

Pasado los 7 días de reposo se tomó una gota de la muestra con la pipeta Pasteur y fue colocada en uno de los pozos de la placa de multipozos que fue creada con anterioridad con papel contact transparente con pequeños huecos colocado sobre un portaobjetos para asemejar la forma de una celdilla. La placa fue llevada al microscopio y una vez ubicada la célula deseada se succionó por capilaridad de la pipeta Pasteur y se colocó en otro pozo con una gota de agua destilada para ser observada nuevamente; este lavado se realizó 11 veces para obtener una gota limpia de otros organismos (Arrendondo y Voltolina 2007)

Escalado

La gota aislada se colocó en un microtubo con 1 ml de agua destilada y 1 ml de alimento de Bayfolan previamente preparado al 5% donde reposo por 9 días en un agitador a una temperatura de 18°C a 20°C, al pasar de este tiempo la cepa va tomando coloración verdosa intensa, lo que demostró crecimiento de las microalgas. En esta etapa se fue escalando de un microtubo de 1 ml a un tubo de ensayo de 4 ml hasta llegar a un recipiente de vidrio esterilizado de 1000 ml (Soto et al. 2020).

El recipiente de 1000 ml estuvo aireado permanentemente con ayuda de un motor de pecera y tapado con gasas esterilizadas para no ser contaminado de microorganismo presentes en el ambiente que puedan dañar el cultivo. Las microalgas estuvieron en este recipiente durante 18 días en los cuales fueron alimentadas cada 3 días con Bayfolan al 5%, se comenzó alimentando con 1 ml del preparado culminando

con 8 ml, también en estos días se realizó el conteo en la rejilla de Neubauer para identificar que el cultivo se encuentre en la etapa exponencial (Soto et al. 2020).

Luego se transvaso los 1000 ml junto con 4000 ml de agua destilada y 8 ml de alimento en un botellón de plástico de 6000 ml en el que estuvo durante 27 días con las mismas condiciones antes descritas hasta llegar a la etapa exponencial y tener una coloración verdosa más potente (Helm et al. 2006)

Protocolo propuesto por variación de longitud de onda

En 12 recipientes de plástico esterilizados y marcados previamente se añadió 3600 ml de agua destilada con 400 ml del cultivo de *Chlorella* sp., de los cuales 3 recipientes fueron colocados en una caja de cartón bien sellado con iluminación en la parte superior suministrada por un foco LED de color azul (460nm y 480nm). Los siguientes 3 frascos fueron colocados en una caja con un foco LED de color rojo (650nm y 800nm), los 3 antepenúltimos en una caja de cartón con un foco LED de color amarillo (550nm y 580nm) y los 3 últimos que son el control se coloca a la luz natural. Los 12 fotobiorreactores fueron conectados con mangueras de silicona a 2 bombas de peceras para la aeración, los cultivos tenían un pH controlado de 7+1 y una temperatura de 18°C a 20°C, durante 27 días; se las alimentó cada 3 días con 10 ml de Bayfolan al 5%.

2.2. Actividades de control

Para obtener los datos de crecimiento celular del cultivo se realizó el conteo celular total cada 3 días con la ayuda de la cámara de Neubauer de 0,1 mm de profundidad, un contador de células y un microscopio óptico (Arrendondo y Voltolina 2007). La cantidad de células y las anotaciones se las realizo en la ficha control del conteo

Para el cálculo de la concentración celular cuando se han utilizado los 4 cuadrantes se aplica la siguiente fórmula:

$$C = N * 10^4$$

Donde, C: es concentración celular en células/ml, N: promedio de células en 1 mm².

Para el cálculo de la tasa de crecimiento celular se aplica la siguiente fórmula:

$$r = \frac{Nt * 100}{N0} - 100$$

Donde, r: tasa de crecimiento de la población, N0: tamaño de la población al inicio de un intervalo de tiempo, Nt: tamaño de la población al final de un intervalo de tiempo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Colecta y aislamiento de *Chlorella* sp.

En los 1000 ml de muestra obtenidas del Río San Fernando del cantón Rumiñahui se logró identificar las microalgas del género *Chlorella* con la ayuda del catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador de Guamán y González (2016). Luego de 7 días de reposo se procedió al aislamiento

de *Chlorella sp.* después de 9 días de cultivo de la célula aislada en 1 ml de agua destilada y 1 ml de Bayfolan al 5%, se obtuvo el monocultivo deseado.

3.2. Escalado del cultivo de *Chlorella sp.*

Al obtener el monocultivo de *Chlorella sp.* se inició el escalamiento que va desde un microtubo de 2ml hasta llegar a obtener 1000 ml de muestra madre todo el proceso tuvo un lapso de 27 días, siempre asegurándose que no se contamine de algún agente externo.

Los 1000 ml de cultivo madre es colocado con 4000 ml de agua destilada en un recipiente de plástico de 6000 ml, posteriormente se sometió a aireación. Se realizó el conteo celular y la alimentación cada 3 días durante 27 días para ser sembrado posteriormente en otro biorreactor.

La figura 3 muestra la curva de crecimiento de *Chlorella sp.*, al momento de la masificación sin ninguna luz artificial expuesta solamente a luz natural. El cultivo inicia su crecimiento sin ningún retraso para llegar a la fase exponencial el día 15 y alcanza el día 27 su máxima concentración celular de $3,2 \times 10^6$ cel/ml, para así ser utilizada para la siembra en los fotobiorreactores propuestos por variación de luz.

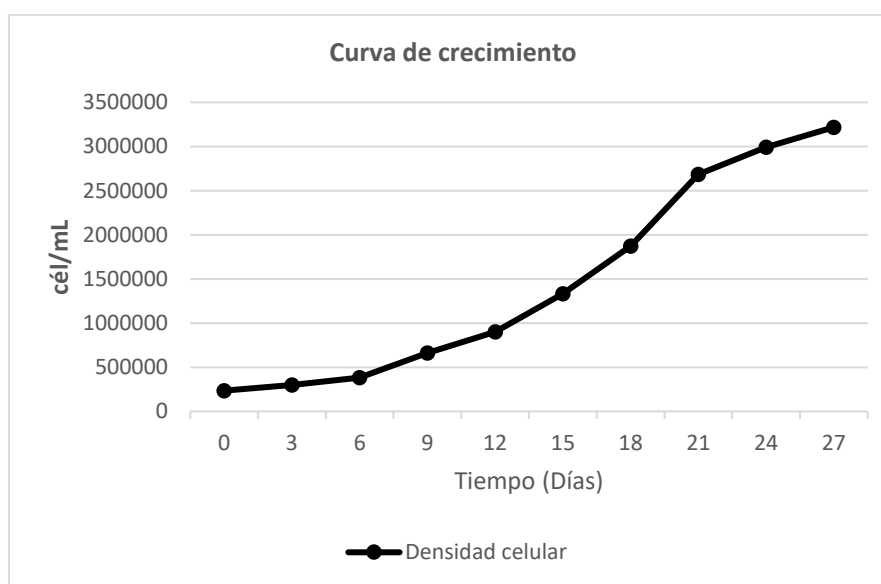


Figura 3. Curva de crecimiento celular del cultivo madre de *Chlorella sp.* en masificación.

3.3. Resultados de los protocolos propuesto por variación de luz

Protocolo con luz azul

En un recipiente se colocó 400 ml de *Chlorella sp.* con 3600 ml de agua destilada, esto se triplico y se expuso al tratamiento de luz azul (460nm y 480nm) durante 27 días a una temperatura de 18°C a 20°C, en los cuales se realizó el conteo celular en las 3 réplicas y se sacó el promedio de estos para obtener los datos y crear la curva de crecimiento celular.

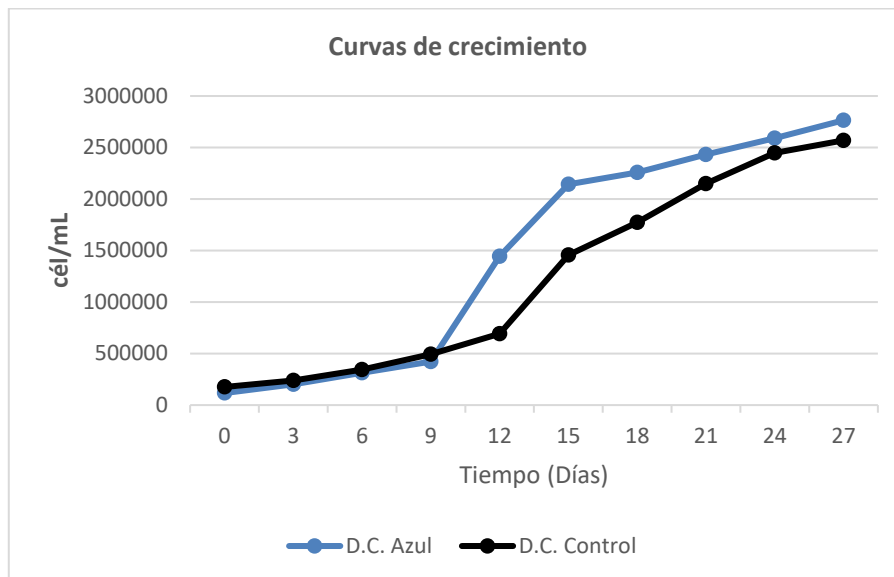


Figura 4. Curvas de crecimiento celular de *Chlorella sp.* expuesta a luz azul y control.

En la figura 4 se observa que la curva de crecimiento con luz azul inicia la fase exponencial el día 12 y se prolonga hasta el día 15 para después alcanzar su fase estacionaria, en el día 27 tiene una concentración celular máxima de $2,7 \times 10^6$ cel/ml. Para la comparación del control y el tratamiento azul se observa que con luz azul el crecimiento celular fue mayor.

Protocolo con luz roja

Los triplicados fueron colocados con una iluminación de foco LEDs de color rojo que oscila entre 650nm y 800nm con una temperatura de 18°C a 20°C durante 27 días en los cuales se obtuvo los datos para realizar la curva de crecimiento de la figura 5.

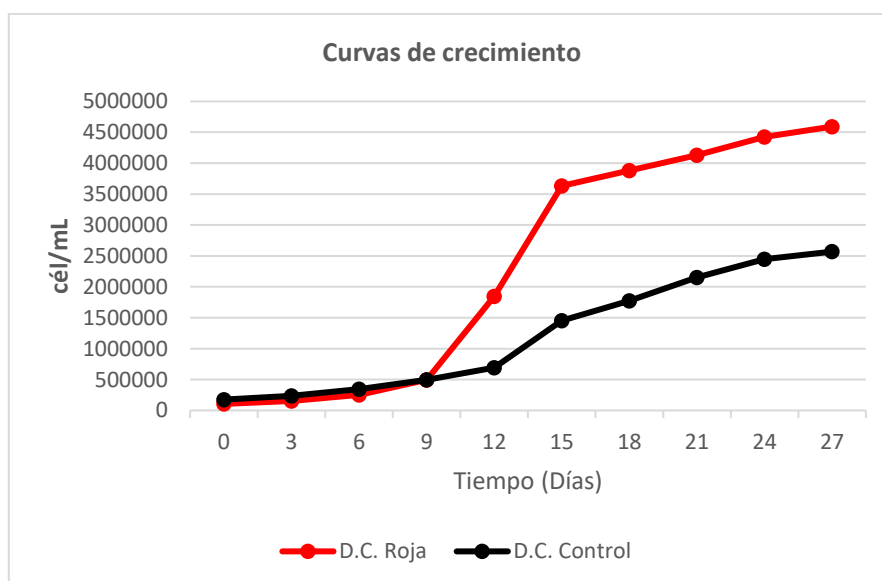


Figura 5. Curvas de crecimiento celular de *Chlorella sp.* expuesta a luz roja y control.

La etapa exponencial comienza el día 12 y se alarga hasta el día 15 para empezar la fase estacionaria alcanzando una concentración celular máxima de $4,5 \times 10^6$ en el día. Se observa que el crecimiento de las microalgas es mayor con la luz roja en comparación con el control (Figura 5).

Protocolo con luz amarilla

El promedio de las 3 réplicas que fueron expuestas a luz amarilla (550nm y 580nm) y a una temperatura entre 18°C a 20°C es usado para realizar la curva de crecimiento de *Chlorella sp* de la figura 6.

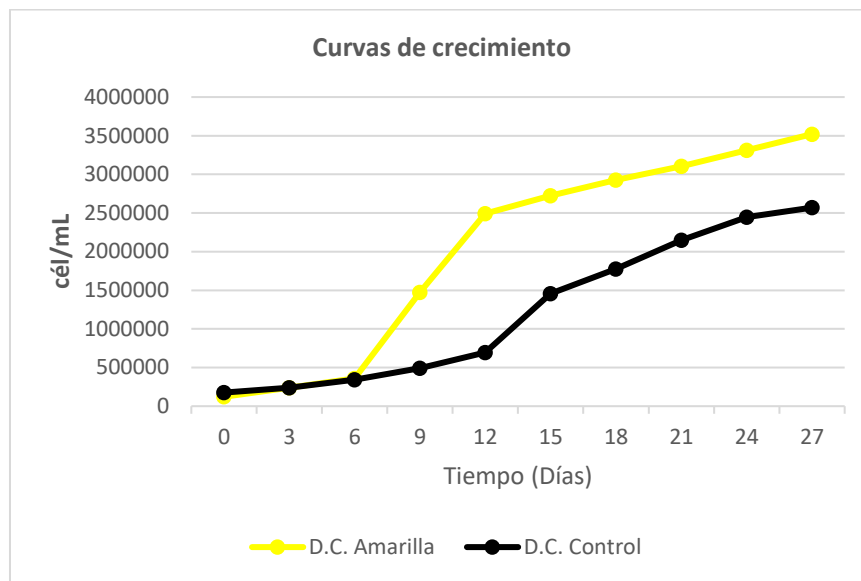


Figura 6. Curva de crecimiento celular de *Chlorella sp.* expuesta a luz amarilla y control.

El cultivo inicia su fase de crecimiento exponencial en el día 9 y termina en el día 12, llega a la fase estacionaria hasta el día 27, que alcanza una concentración celular máxima de $3,5 \times 10^6$ cel/ml. Se puede observar que la curva de crecimiento para el control es menor en comparación con la luz amarilla (Figura 6).

Protocolo control con luz natural

Para el control se utilizó tres envases de 6000 ml. cada uno en el cual contenía 3600 ml de agua destilada junto con 400 ml. del cultivo de microalgas que fue expuesta a la luz natural con una temperatura de 18°C a 20°C, durante 27 días, sin ninguna intervención lumínica solo alimentación y aeración. Los datos obtenidos del control se observan en la curva de crecimiento de la figura 7.

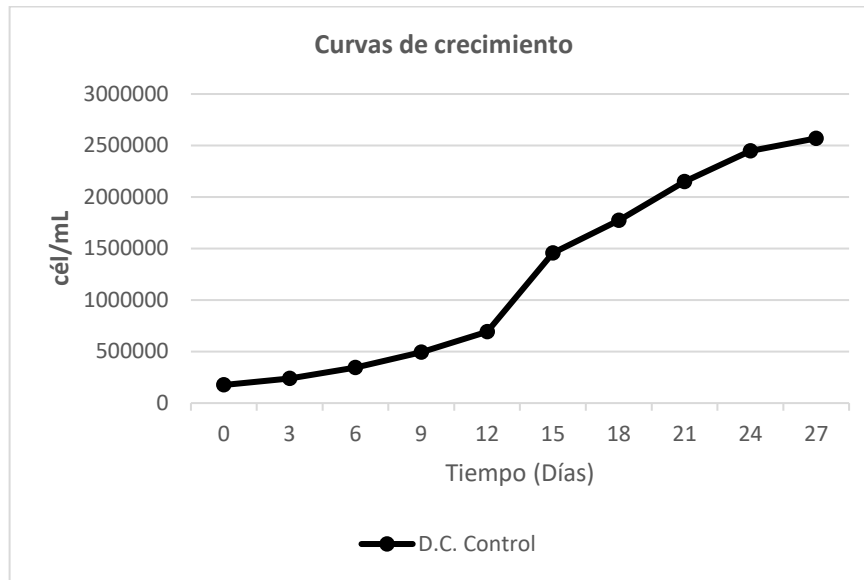


Figura 7. Curva de crecimiento celular de *Chlorella sp.* expuesta a luz natural para el control.

En la figura 7 se observa que la etapa exponencial comienza el día 15 y se alarga hasta el día 24, la curva indica que el día 27 alcanza una concentración celular máxima de $2,5 \times 10^6$ cel/ml.

3.4. Comparación entre protocolos y control

En el presente estudio se consiguió el aislamiento y cultivo de *Chlorella sp.* en diferentes exposiciones de color ya que según Huang y colaboradores (2010) estos microorganismos pueden crecer y reproducirse aceleradamente en distintos fotobiorreactores.

Durante 27 días se observó los cambios que existió en los tres protocolos ya explicados para comparar si existía alguna diferencia en el crecimiento celular y mejorar los fotobiorreactores. Los resultados obtenidos para seleccionar cual luz es la adecuada para el cultivo de *Chlorella sp.* indica que la luz roja que va de 625nm hasta 740nm se presentó la mayor densidad poblacional $4,5 \times 10^6$ cel/ml en comparación con la luz azul, amarilla y en el control. (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de la densidad celular máxima (DCM) en diferentes exposiciones a la luz (azul, roja, amarilla y el testigo) en 27 días de desarrollo.

Tratamiento	DCM (cel/ml)
Azul (460nm y 480nm)	$2,7 \times 10^6$
Roja (650nm y 800nm)	$4,5 \times 10^6$
Amarilla (550nm y 580nm)	$3,5 \times 10^6$
Control (390nm y 800nm)	$2,5 \times 10^6$

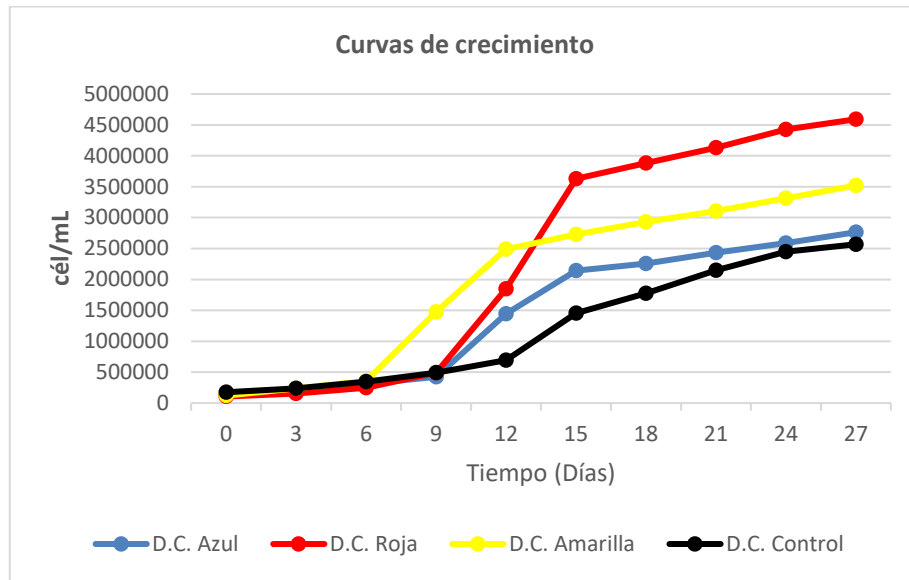


Figura 8 Comparación de curvas de crecimiento celular de *Chlorella sp.* expuesta a luz azul, roja, amarilla y el testigo

En la figura 8 se observa la comparación de las curvas de crecimiento celular en los diferentes tratamientos, con la luz amarilla la etapa exponencial comienza en el día 9 en cambio en los tratamientos con luz rojo y azul la fase exponencial comienza el día 12, para el testigo la llegada a esta etapa es en el día 15. Los 3 tratamientos y el control llegan a la fase estacionaria.

Para realizar las curvas de la tasa de crecimiento poblacional se utilizó la formula antes descrita, y sirve para saber en qué día la tasa de crecimiento es superior al resto de días y así encontrar la etapa exponencial en cada tratamiento aplicado.

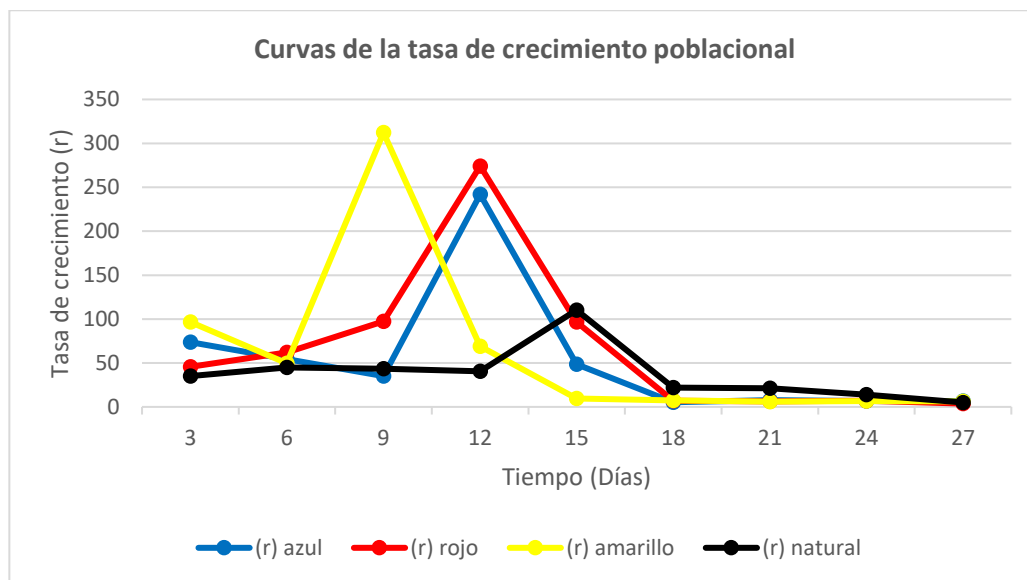


Figura 9. Curva de la tasa de crecimiento de la población de *Chlorella sp.* expuesta a luz azul, roja, amarilla y el testigo

Así se puede observar en figura 9 que la etapa exponencial del control llega más tarde que el resto de los 3 tratamientos, también se aprecia que la tasa de crecimiento de los 3 tratamientos supera a la tasa de crecimiento poblacional del control.

Para realizar los estadísticos se utilizó solamente los datos de la tasa de crecimiento del día 9 hasta el día 18 que es cuando los tratamientos llegaron a la etapa exponencial para comparar si hay diferencia significativa al momento de llegar a esta fase. Al aplicar la prueba de normalidad de Shapiro- Wilks, se determinó que la distribución de los datos es normal con un $p > 0,05$, por lo que se aplicó el estadístico ANOVA para establecer si se presentó alguna diferencia estadísticamente significativa al momento de llegar a la etapa exponencial en los diferentes fotobiorreactores.

Con un valor $p < 0,05$ se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos; es decir, por lo menos 1 de los 4 fotobiorreactores presenta una diferencia al momento de llegar al estado exponencial en los 27 días de exposición.

Figura 10. Box plot de la etapa exponencial en el crecimiento celular de *Chlorella sp.*, expuestos a la luz natural, roja, azul y amarillo son representados por los colores verde, tomate, morado y fucsia respectivamente.

En la figura 10, se puede observar la comparación de medias y medianas de la tasa de crecimiento de la etapa exponencial de *Chlorella sp.*, los 3 tratamientos son diferentes al control ya que ninguna caja se solapa con la caja color verde que representa a la luz natural que es el testigo.

4. DISCUSIÓN

Se identifica a la microalga *Chlorella sp.* en el Laboratorio de Ficología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UCE usando la guía de Soto y colaboradores (2020), así se demostró que las características morfológicas concuerdan con la descripción de dichos autores. Según Guamán y González (2016) esta especie se encuentra distribuida mundialmente en vertientes sin contaminación y en la publicación de Simbaña-Farinango y compañeros (2019) los que demostraron que el índice de calidad de agua del Río Pita que alimenta al río San Fernando presenta una “calidad media” por lo tanto es normal encontrar estos microorganismos en este efluente.

En los 3 tratamientos de luz azul, roja, amarilla y en el control se tenía una temperatura que oscilaban entre los 18°C a 20°C, Mehlitz (2009) describe que las microalgas sobreviven en temperaturas que pueden ir entre 16°C hasta los 35°C, pero si esta llegara a disminuir a los 16°C el crecimiento celular disminuye, en tanto si sobrepasa los 35°C la célula muere; siendo la temperatura óptima para el cultivo microalga de 20°C a los 24°C.

En los 12 fotobiorreactores se colocó 2 motores de pecera para el mezclado adecuado, ya que en cultivos sin aeración la luz penetra solamente de 1 hasta 2 cm de la superficie provocando el efecto de sombreado sobre las células que se encuentran en el fondo o en el medio del biorreactor disminuyendo notablemente la eficacia del crecimiento de la densidad celular (Fernández et al. 2002). Según Benavente-Valdés y colaboradores (2012) cuando existe insuficiente agitación se produce muerte celular y exceso de sedimentación que afecta directamente al conteo celular en la cámara de Neubauer.

La utilización de focos LED en los tres tratamientos de este proyecto, fue por su gran acogida en el campo de investigación en los laboratorios, ya que, en comparación con los focos tipo E, estos disminuyen los costos por poseer mayor vida útil y necesitar menor energía eléctrica. También tienen la cualidad de no generar calor, por lo que lo hace efectivo para el uso de organismo fotosintéticos sensibles (Navarro et al. 2013).

El tiempo de exposición lumínica de los 3 tratamientos es de 24/0 horas luz:oscuridad que en estudios anteriores sobre microalgas ha obtenido resultados favorables en tanto a la cantidad de biomasa adquirida; esto se debe a que la mayor producción de biomasa se da en periodos de luz, mientras que en la oscuridad el crecimiento celular es menor o inclusive existe pérdida de esta (Ferrero 2011)

Los 3 tratamientos propuestos en el presente proyecto lograron obtener densidades celulares máximas de $2,7 \times 10^6$, $4,5 \times 10^6$ y $3,5 \times 10^6$ cel/ml. para azul (460nm - 480nm), rojo (650nm - 800nm) y amarillo (550nm - 580nm) respectivamente al final de este trabajo. Obteniendo la mayor densidad poblacional en el cultivo irradiado con luz roja, como fue reportado por Pérez y Fernández (2011) donde aplican a *Chlorella* sp. 3 diferentes longitudes de onda: roja, azul y blanca indicando que el mejor fotobiorreactor para el crecimiento celular corresponde al iluminado por la luz roja. Los mismos resultados se obtuvo en el experimento realizado por Ruiz y colaboradores (2014) que usaron a *Chlorella vulgaris*. para evaluar los efectos que causa la longitud de onda sobre el crecimiento microalgal.

Otro estudio que utiliza la luz para el cultivo de microalgas es el realizado por Plasencia (2012) en el cual expone a *Chlorella sorokiniana* a 5 diferentes ensayos: el primero al 50% luz roja, segundo 50% luz azul, tercero 50% y 50% de ambas luces, cuarto 70% roja y 30% azul y quinto viceversa del cuarto. Y la mayor producción de biomasa fue en el primer ensayo iluminado con luz roja, corroborando nuevamente con los resultados obtenidos en esta investigación.

Los resultados obtenidos en este estudio se podrían explicar por los coeficientes de absorción de los pigmentos fotosintéticos presentes en cada especie de microalga; la clorofila a se encuentra en todo organismo fotosintético y realiza su máxima absorción en la región del rojo y el azul (Azcón-Bieto y Talón

2008). Según Mass y colaboradores (2011) la clorofila b tiene su pico máximo de absorción en el rango de 660nm a 665nm mientras que el pico máximo de absorción de la clorofila a esta en 642 nm a 652 nm es decir en la región que abarca al rojo; por tal motivo es normal que la densidad celular en el tratamiento del rojo fuese superior en comparación con el resto.

Según la longitud de onda que es expuesta la microalga será el comportamiento de los fotones presentes en la clorofila a, tal es el caso que la radiación de la región azul eleva a un electrón a un nivel energético muy elevado e inestable, causando que este pierda esa energía rápidamente. En cambio, la radiación de la luz roja excita al electrón con menor energía haciéndolo más estable y por lo tanto el pigmento tiene un coeficiente de absorción adecuado para los procesos fotosintéticos (Barceló-Coll et al 2001).

La síntesis de giberelinas, antocianinas, enzimas y proteínas (citoplasmáticas, mitocondriales y estructurales) que están relacionadas con el crecimiento celular de las microalgas y según Lopes et al. (2008) se ven favorecidas cuando están expuestas a longitudes de onda de 700 nm que es la región de color rojo.

En el estudio de Palacios (2016) expusieron a *Tetraselmis* spp a cuatro diferentes longitudes de onda azul, blanca, roja y verde durante 11 días y el mejor resultado en cuanto a densidad poblacional fue para la luz azul con $1,3 \times 10^6$ cel/ml., lo mismo realizaron con *Rhodomonas* spp. pero durante 16 días, obteniendo los mejores datos en el biorreactor iluminado con luz verde con $2,2 \times 10^6$ cel/ml. Difiriendo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, esto se justifica por el variado comportamiento fisiológico que cada especie de microalga puede tener a diferentes estímulos (Gómez & González 2005).

Los datos obtenidos en cuanto a la rápida llegada a la etapa exponencial con la luz amarilla son similares a el estudio realizados por Cruz y colaboradores (2013), en el cual utilizó la luz amarilla, turquesa y luz roja sobre la microalga *Chlamydomonas reinhardtii* durante 200 horas, en donde se observó que la luz amarilla en la hora 72 despunta el crecimiento exponencialmente, en cambio con la luz roja y la turquesa el crecimiento exponencial despunta a las 150 y 130 horas respectivamente. Y dichos autores sustentan que este resultado es debido a que la luz amarilla es la más cercana a la luz del sol idónea para realizar actividades fotosintéticas igualmente por el calor que irradia esta longitud de luz que es intermedia entre la luz roja y turquesa.

5. CONCLUSIONES

La influencia de las longitudes de onda azul, amarilla y roja fue exitosa en cuanto al crecimiento de biomasa de *Chlorella* sp. comparada con el control.

El diseño de los fotobiorreactores fue eficiente para el crecimiento celular de la microalga *Chlorella* sp.

La etapa exponencial llego en el día 9 en el fotobiorreactor expuesto a la luz amarilla, a diferencia de los otros tratamientos que llegaron a esta etapa en el día 12 y 15, demostrando así que la longitud de

onda de luz amarilla de 550 - 580 nm, sirve para una temprana cosecha de las células en estado exponencial, y con los estadísticos se comprueba que existe diferencia significativa de los 3 tratamientos y el control.

Se cuantifico $4,5 \times 10^6$ cel/ml en el fotobiorreactor de luz roja al terminar los 27 días de tratamiento, concluyendo que esta onda de luz de 650 - 800 nm mejora notablemente al crecimiento poblacional de la *Chlorella* sp. en comparación con el resto de los tratamientos.

FINANCIACIÓN

La investigación no tuvo financiamiento

CONFLICTO DE INTERESES

Los Autores declaran si existen o no conflicto de intereses con su investigación

CONTRIBUCIÓN DE AUTORÍA

En concordancia con la taxonomía establecida internacionalmente para la asignación de créditos a autores de artículos científicos (<https://credit.niso.org/>). Los autores declaran sus contribuciones en la siguiente matriz:

<i>Participar activamente en:</i>	<i>Autor 1.</i>	<i>Autor 2</i>	<i>Autor 3</i>
<i>Conceptualización</i>	X	X	X
<i>Análisis formal</i>	X	X	X
<i>Adquisición de fondos</i>	X	X	X
<i>Investigación</i>	X	X	X
<i>Metodología</i>	X	X	X
<i>Administración del proyecto</i>	X	X	X
<i>Recursos</i>	X	X	X
<i>Redacción –borrador original</i>	X	X	X
<i>Redacción –revisión y edición</i>	X	X	X
<i>La discusión de los resultados</i>	X	X	X
<i>Revisión y aprobación de la versión final del trabajo.</i>	X	X	X

RECONOCIMIENTO A REVISORES:

La revista reconoce el tiempo y esfuerzo del editor de sección Patricio Santillán Lima y de revisores anónimos que dedicaron su tiempo y esfuerzo en la evaluación y mejoramiento del presente artículo.

REFERENCIAS

- Abalde J, Cid A, Fidalgo P, Torres E & Herrero C. 1995. Microalgas: Cultivo y Aplicaciones. Universidad de Coruña. Servicios de publicaciones. Coruña.
- Arredondo B., Voltolina D. 2007. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz.
- Azcón-Bieto J & Talón M. 2008. Fundamentos de fisiología vegetal. Segunda Edición ed. Barcelona.
- Barceló-Coll J, Rodrigo N. G, García S. B & Sánchez-Tamés R. 2001. Fisiología vegetal. Madrid.
- Benavente-Valdés J, Montañez J, Aguilar C, Méndez-Zabala A & Valdivia B. 2012. Tecnología de cultivo de microalgas en fotobiorreactores. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila. México.
- Carvalho A. P, Silva S. O, Baptista J. M & Malcata F. X. 2011. Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. Applied Microbiology Biotechnology, Issue 89, pp. 1275-1288.
- Castillo O, Torres S, Núñez C, Peña V, Herrera C & Rodríguez J. 2017. Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas. Hidrobiología. Ciudad de México.
- Contreras-Flores C, Peña-Castro J, Flores-Cotera L & Cañizares-Villanueva R. 2003. Avances en el diseño conceptual de fotobiorreactores para el cultivo de microalgas. Interciencia 28(8): 450-456. Caracas.
- Edding M., Tala F. & Vásquez J. 2006. Fotosíntesis, productividad y algas marinas. Ediciones Universidad de La Serena. La Serena. Chile.
- Eriksen N. T. 2008. The technology of microalgal culturing. Biotechnology Letters, Issue 30, pp. 1525-1536.

- Fernández J, García J, García F, Molina E, Al-Dahhan MH, Huping L & Kemoun A. 2002. Integration of fluid dynamics, light regime and photosynthetic response in photobioreactors. 1st Congress of International Society for Applied Phycology. Roquetas de Mar. España.
- Ferrero I. 2011. Producción de biodiesel a partir de microalgas como alternativa a los cultivos clásicos. Monografía Universidad Nacional del Litoral. Santa Fé. Argentina.
- García K. 2021. Tratamiento fisicoquímico de efluente avícola y subsecuente uso para cultivo de microalgas *Chlorella vulgaris* en biorreactores operado en modo continuo. Universidad Católica de Santa María. Arequipa. Perú.
- García M. D. C. 2013. Producción de microalgas con aplicaciones nutricionales para humanos y animales. Cuadernos de estudios agroalimentarios. España.
- Gobierno Autónomo Descentralizado Municipal del Cantón Rumiñahui. 2020. Plan de Desarrollo Turístico del Cantón Rumiñahui–Ecuador. (Encontrado en: https://amevirtual.gob.ec/wp-content/uploads/2020/07/PLAN-DE-DESARROLLO-TUR%C3%8DSTICO-GAD-RUMI%C3%91AHUI_compressed.pdf. Consultado el: 26 de abril del 2022).
- Gómez P. & González, M. 2005. The effect of temperature and irradiance on the growth and carotenogenic capacity of seven strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) cultivated under laboratory conditions.
- González L. 2010. Influencia de la deficiencia de nitrógeno y fósforo en las interacciones competitivas entre *Chlorella vulgaris* y *Scenedesmus acutus*. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 65. Bogotá.
- González C.A. 2015. ¿Qué son las microalgas? Interés y uso. Fundación CAJAMAR-Cajamar AND Agro. Cajamar.
- Graham L.E & Wicox L.W. 2000. Introduction to the Algae. Prendice-Hall, Inc., Upper Saddle River. Universidad de Wisconsin. Madison.
- Grobbelaar J.U. 2004. Algal nutrition: mineral nutrition. In: Richmond A (ed). Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology, pp. 97-115. Blackwell Science, Iowa.
- Guamán-Burneo M.C & González R. N. 2016. Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador. Corporación para la investigación Energética, Laboratorio de Biotecnología Energética, Quito, Ecuador.
- Hernández-Pérez A & Labbé J.I. 2014. Microalgas, cultivo y beneficios. Revista de Biología Marina y Oceanografía Vol. 49, Nº2: 157-173. Chile.
- Helm M, Bourne N & Lovatelli A. 2006. Cultivo de Bivalvos en criadero. Un manual práctico. AO Documento Técnico de Pesca. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma.
- Huang G, Chen F, Wei D, Zhang X & Chen G. 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology. Appl Energy. 87:38–46.
- Infante C, Angulo E, Zárate A, Florez J. Z, Barrios F & Zapata C. 2012. Propagación de la microalga *Chlorella* sp. en cultivo por lote: cinética del crecimiento celular. Avances en Ciencias e Ingeniería 3(2): 159-164. Chile, La Serena.
- Kondo T & Ishiura M. 2000. The circadian clock of cyanobacteria. BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology.
- Lopes E, Gimenes C, Cacia L & Franco T. 2008. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. Universidad de Campinas. Brasil.
- Marín L. 2016. Estudio de la influencia de diferentes longitudes de onda de luz LED en la germinación de una orquídea *Encyclia* sp. Instituto Latinoamericano de Ciencias de la Vida y la Naturaleza (ILACVN) Ciencias Biológicas – Ecología y Biodiversidad. Foz do Iguacu.
- Martínez L. 2008. Eliminación de CO₂ con microalgas autóctonas. Tesis Doctoral, Instituto de Recursos Naturales, Universidad de León, León, 226 pp. España.
- Masojídek J, Koblizek M & Giuseppe T. 2004. Photosynthesis in Microalgae. En: A. Richmond, ed. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology. Oxford: Blackwell Publishing, pp. 20 - 40. Oxford.
- Mass O, Taniguchi M, Ptaszek M, Springer J, Faries K, Diers J, Bocian D, Holten D & Lindsey J. 2011. Structural characteristics that make chlorophylls green: Interplay of hydrocarbon skeleton and substituents. New Jersey.
- Mehlitz TH. 2009. Temperature influence and heat management requirements of microalgae cultivation in photobioreactors. Tesis de Maestría. California Polytechnic State University. California.

- Mortain-Bertrand A, Descolas-Gros C & Jupin H. 1987. Stimulating effect of light-to-dark transitions on carbon assimilation by a marine diatom. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 112: 1-26. Francia.
- Navarro V. 2013. Análisis de la utilización de luz emitida por lámparas de diodo LEDs en la producción in vitro para la obtención de semillas prebásicas de *Solanum tuberosum*. Trabajo final de ingeniería en Producción Agropecuaria. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Católica Argentina. Argentina.
- Park J. B, Craggs R.J & Shilton A.N. 2011. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 102: 35-42. Nueva Zelanda.
- Palacios D. 2016. Efecto de los espectros de luz azul, roja y verde en la multiplicación celular y síntesis bioquímica de *Rhodomonas* spp. y *Tetraselmis* spp. en condiciones in vitro. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil. Guayaquil.
- Pérez J & Fernández P. 2011. Efecto de la longitud de onda de luz y variación en el suministro de Carbono en la síntesis de lípidos neutros en la microalga *Chlorella* sp. Simposio Internacional de Biofábricas. Universidad Nacional de Colombia. Nariño.
- Plasencia J. 2012. Cultivo de microalgas (*Chlorella sorokiniana*) con iluminación mediante LEDs (Light Emitting Diodes). Escuela técnica superior de ingenieros agrónomos. Dpto. Producción vegetal: fitotecnia. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid.
- Richmond A. 2003. "Biological principles of mass cultivation". Handbook of microalgal culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing. Negev, Israel.
- Robles-Pliego M, Olguín E. J, Hernández-Landa J, González-Portela R.E, Sánchez-Galván G & Cuervo-López F. 2015. Dual purpose system for water treatment from a polluted river and the production of *Pistia stratiotes* biomass within a biorefinery. *Clean Soil Air Water* 43: 1445-1558.
- Romero C. 2015. Efecto de la absorción y de la composición espectral de la luz sobre el crecimiento y la composición proximal de *Amphora* sp. y su influencia en la preservación en frío y en la criopreservación. Programa de Posgrado en Ciencias en Acuicultura. CICESE. Baja California.
- Ruiz C, Rodríguez de la Garza J, Garza Y & Ríos L. 2014. Evaluación del efecto de la longitud de onda y la concentración de hierro sobre el crecimiento en aguas residuales de la cepa microalgal *Chlorella vulgaris*. XI encuentro Participación de la mujer en la Ciencia. Universidad Autónoma de Coahuila. México.
- Simbaña-Farinango K, Romero-Estévez D, Yáñez-Jácome G, Benavides D, Navarrete H. 2019. Evaluación de la calidad del agua del Río Pita (Ecuador), implicación para la conservación de la vida acuática y silvestre. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito.
- Soto G, Monar P, García-Orellana Y, Simbaña A. G, Tello E. G, Brito J & Torres D. 2020. Propuesta de un protocolo para la obtención de fertilizante orgánico a partir de microalgas. *Agroindustria, Sociedad Y Ambiente*, 1(14), 92-109. Recuperado a partir de <https://revistas.uclave.org/index.php/asa/article/view/2834>.
- Soria-Ruiz J, Ramírez-Rojas S, Quijano-Carranza J, Rocha R, Varela-Loza V, Bartolo JC, Vázquez JMP, González A. 2016. Percepción remota y tecnología satelital como apoyo a los sistemas de alerta temprana en México.
- Ugwu C. U, Aoyagi H & Uchiyama H. 2007. Influence of irradiance, dissolved oxygen concentration, and temperature on the growth of *Chlorella sorokiniana*. *Photosynthetica*, 2(45), pp. 309-311.
- Vera A, Martínez M, Cañas M. A, Colina M.E & Ayala Y. 2007. *Chlorella* sp. cultivada en medios con el exudado gomoso de *Prosopis juliflora* DC.
- Xue S, Su Z & Cong W. 2011. Growth of *Spirulina platensis* enhanced under intermittent illumination. *Journal of Biotechnology*, Issue 151, pp. 271-277.